

Oponentský posudek

na disertační práci Ing. Nikoly Vaňkové
nazvanou „Retence a účinnost v kapalinové chromatografii v systémech
s vysokou píkovou kapacitou“

Disertační práce Ing. Nikoly Vaňkové je zpracována jako komentovaný soubor šesti publikací, s třicetí stránkovým úvodem do problematiky. Publikace vyšly v časopisech s impaktním faktorem. Dvě aplikační práce jsou uveřejněné v českém periodiku (Chem. Listy), ale jsou rovněž sepsané anglicky.

Disertační práce sleduje fyzikálně chemické vlastnosti, jak termodynamické, tak kinetické, různých kapalinově chromatografických separačních systémů, za podmínek isokratické nebo gradientové eluce. Ing. Vaňková zkoumala vhodnost různých retenčních modelů pro popis chromatografických systémů. Práce byla vypracována na pracovišti, které má dlouhodobě významné postavení v oblasti studia, predikce chování a optimalizace chromatografických separačních systémů. Autorka se soustředila na oblast základního výzkumu, avšak nechybí ani aplikační výstupy.

Připomínky resp. náměty do diskuze“:

Po formální stránce je práce zpracována pečlivě, s minimem překlepů a chyb. Problematické je odlišné indexování shodných veličin v některých obrázcích či rovnicích a v textu (např. lineární rychlost mobilní fáze obr. 6 a text na str. 29,...). Seznam zkratk by mohl být úplnější. Také symboly pro veličiny vyskytující se v rovnicích by mohly být zařazeny do seznamu. Zavedené zkratky časopisů by bylo vhodné všude dodržovat (Příloha 1). Pro lepší orientaci by se mi zdálo vhodnější zařazovat obrázky blíže k textu, který je komentuje.

Je spojování jednotlivých bodů v grafech např. v obrázcích 2 a 3 adekvátní?

Co je 7. pík v modrém chromatogramu na obrázku 4 (str. 25)? Hovoří se pouze o šesti látkách (benzen a pět alkylfenolů).

Lze opravdu hovořit o „HILIC retenci“ v chromatografickém systému v celé škále složení mobilní fáze, jak je formulováno v první větě na str. 27?

Článek v Příloze III je označen jako odeslaný do J. Chromatogr. A. Došlo k nějakému posunu vzhledem k publikaci?

Ukazuje i 25% odchylka experimentu a predikce (str. 50), že je model k predikci, a tak k optimalizaci gradientu eluce, použitelný?

V kapitole 4 se hovoří stále o přesnosti predikce. Pokud je to správné vyjádření, jak je to se správností predikce?

Očekávala jsem, že se úvodní teoretické studie odrazí/uplatní v aplikačních pracích. Nezkoušela jste optimalizovat gradient s využitím teoretického přístupu aspoň mimo publikační aktivitu?

Dovedla byste v rámci diskuze ještě shrnout „reálnost/vhodnost“ použití retenčních modelů, LSS, kvadratického retenčního modelu, modelu podle Neuveho a Kusse, adsorpčního modelu, směsného modelu příp. dalších pro různé chromatografické separační systémy a analyty – jednodušší a složitější? Lze zohlednit i vliv určité charakteristiky analytů, jako třeba počet glukosových jednotek u oligosacharidů (str. 40)? Příp. lze určit hranici, kde se začíná uplatňovat jiný model lépe?

Závěr:

Ing. Vaňková předložila kvalitní disertační práci. Kvalita předkládané práce je podtržena pěti dosud vyšlými publikacemi v recenzovaných časopisech s impaktními faktory a řadou prezentací na mezinárodních a národních konferencích. Práce Ing. Nikoly Vaňkové mohu doporučit k obhajobě a dalšímu řízení, neboť zcela splňuje požadavky kladené na disertační práci.

V Praze dne 10.10.2016



Eva Tesařová



RECENZNÍ POSUDEK NA DISERTAČNÍ PRÁCI

Název práce: Retence a účinnost v kapalinové chromatografii v systémech s vysokou píkovou kapacitou

Autor: Ing. Nikola Vaňková

Oponent: doc. RNDr. Petr Bednář, Ph.D.

Předložená disertační práce se zabývá studiem retence a účinnosti v kapalinové chromatografii a zejména v systémech s vysokou kapacitou píků. Jde o práci kombinující chromatografická měření látek s různou chemickou strukturou a velmi rozdílnou molekulovou hmotností s teoretickými výpočty umožňujícími predikci retenčního chování. Modely vykazující dobrou shodu mezi experimentem a výpočty je možno využít pro optimalizaci separace v izokratickém i gradientovém uspořádání. Použití modelů během optimalizace umožňuje snížení počtu experimentů, což se může pozitivně projevit v ekonomice provozu chromatografické laboratoře i v jejím vlivu na životní prostředí. Výsledky vycházející z výzkumu retence jsou doplněny dvěma aplikacemi zabývajícími se chromatografickou analýzou ethoxylátů mastných alkoholů.

Práce je komentovaným souborem publikovaných prací, u kterých je Ing. Vaňková první autorem (3 práce) nebo spoluautorem (2 práce) a jednoho zaslaného rukopisu. Tyto práce jsou do disertace připojeny a tvoří šest příloh. Publikované práce prošly náročným recenzním řízením a o jejich kvalitě není tedy sporu.

Úvodní shrnující text dobře pokrývá řešenou problematiku. Jednotlivé kapitoly jsou zaměřeny zejména na kinetiku a termodynamiku separačního procesu a způsoby popisu retence a jejího modelování. Z textu je patrné, že doktorandka se ve studované problematice velmi dobře orientuje a vychází z kvalitní literární rešerše. Kvalitní je i grafika celé disertační práce. Počet překlepů, jazykových a stylistických nepřesností nevybočuje z běžného rámce (jejich přehled je přiložen na konci posudku). Drobnou kritickou poznámkou ke struktuře shrnujícího textu je, že obrázky nejsou uvedeny přímo v textu a jsou odkazovány do přiložených reprintů publikací. Nezbytné listování v reprintech poněkud znesnadňuje čtení shrnujícího textu.

K práci mám následující připomínky a otázky:

1. Str. 19, Kapitola 3.5.2., termín „povrchová rychlost“. Je terminologicky vhodné vyjadřovat rychlost toku prázdnou trubicí jako povrchovou rychlost? Evokuje to představu rychlosti mobilní fáze u povrchu trubice, kde se ale rychlost blíží nule. U tohoto odstavce není uvedena citace, ze které autorka vychází.
2. V textu u rovnic 16-18 není definován parametr u_r .
3. Str. 20, v kap. 3.6 autorka uvádí: „Za izokratických podmínek dochází k rozšiřování píku úměrně retenčnímu času (obrázek 3), ale při separaci pomocí gradientové eluce se šířka píku teoreticky nemění“. Tato věta заслужuje bližší komentář. Situace v izokratických podmínkách je jasná. U gradientové eluce způsobuje nárůst eluční síly v průběhu analýzy zaostření zóny a tedy neproporcionální zmenšení šířky píku vzhledem k retenčnímu času. Tyto změny jsou však silně ovlivněny profilem gradientu. Uvažuje tedy autorka nějaký teoretický gradient, u kterého platí, že „izokratické“ rozšíření eluované zóny je právě kompenzováno efektem gradientového zaostření? V každém případě by nešlo o obecnou zákonitost, kterou věta naznačuje, ale spíše o velmi speciální případ gradientu.

4. Zápis vztahu 29 by měl být uveden jako $\ln k = \ln k_w - S \cdot \varphi$. V práci je vztah uveden ve formě $\ln k = \ln k_w(-S \cdot \varphi)$, což by bylo nesprávně interpretováno jako násobení $\ln k_w$ členem $-S \cdot \varphi$.
5. Jak byla provedena simulace izokratické separace uvedená na Obrázku 4A, str. 25?
6. Na straně 37 autorka uvádí, že u Neue-Kuss modelu byly získány nižší chyby predikce u gradientové eluce než u izokratické. Podobně je tomu i v kapitole 6.1 (strana 48) popisující predikci dle smíšeného modelu. Izokratickou eluci lze obecně považovat za jednodušší z hlediska popisu retence a podmínky izokratického separačního procesu za stabilnější. Čím si autorka zjištěné rozdíly vysvětluje?
7. Str. 42, Kap. 5.3 popisující vliv aditiv v mobilní fázi a jejich koncentrace na retenci maltooligosacharidů. Autorka píše: „Naopak, retence aniontových 2-AA a ANTS derivátů výrazně roste s rostoucí koncentrací octanu amonného. Tento fakt, který byl pozorován při použití neutrální amidové a silikagelové kolony, může být způsoben odpuzováním aniontů negativně nabitou stacionární fází díky silanolovým skupinám (resp. zbytkovými silanoly v amidové fázi), a dále může být ovlivněn potlačením disociace s rostoucí iontovou silou.“ Repulze mezi analytem a povrchem stacionární fáze by obecně měla způsobovat malou retenci a právě potlačení disociace zvyšující se s přidáním soli do mobilní fáze je tím efektem, který zvyšuje retenci. Souvětí by tedy nemělo být ve slučovacím poměru, ale mělo by být formulováno tak, že hlavní důsledek zvýšení retence je potlačení disociace vlivem zvyšující se iontové síly. Formulace vznikla patrně nepřesným zpětným překladem z publikované práce v Příloze II.

Uvedené komentáře a poznámky nejsou významné a nesnižují kvalitu předkládané práce, která obsahuje celou řadu zajímavých a prakticky využitelných výsledků publikovaných v impaktovaných časopisech.

Závěrem mohu konstatovat, že předložená disertační práce Ing. Nikoly Vaňkové splňuje všechny požadavky kladené na tento typ prací a proto ji doporučuji k obhajobě.

V Olomouci, 7. října 2016

doc. RNDr. Petr Bednár, Ph.D.

Katedra analytické chemie, Přírodovědecká fakulta
Univerzita Palackého v Olomouci
17. listopadu 12
77146 Olomouc
E_mail: petr.bednar@upol.cz

Stylistické a jazykové nesrovnalosti, překlepy

Abstrakt, Věta: byla studována píková komprese docílená při separacích... ” Lépe by bylo psát „komprese píků” nebo „komprese eluovaných zón analytů” nebo podobně. „Píková komprese ” působí poněkud nevhodně jako kombinace anglikanismu a slangu.

Str 10 překlep, „elucia”.

Str. 17 překlep, „retennění”.

Str. 20, kap. 3.6, termín „silnější složka mobilní fáze” je zkratkovitý. Vhodnější by bylo napsat „složka mobilní fáze s větší eluční silou”.

Str. 22 „Na základě rovnice o převodu hmoty a disperzním modelování ”, má patrně být „...a disperzního modelování.... ”.

Str. 28, „jenotlivé --> jednotlivé

Str. 37, „roustoucí --> rostoucí

Str. 39, „flourescenční --> fluorescenční

Str. 42, „intových --> iontových

Str. 47, Expreimentální --> Experimentální

Str. 47, v Příoze III --> v Příloze III

Str. 49 odchlky --> odchylky

Str. 50 pedikovat --> predikovat

Str. 56 sektrofotometrickou --> spektrofotometrickou

Posudek oponenta disertační práce Ing. Nikoly Vaňkové

Ve své disertační práci „*Retence a účinnost v kapalinové chromatografii v systémech s vysokou píkovou kapacitou*“ se Ing. Nikola Vaňková věnuje studiu kinetických a termodynamických vlastností chromatografických separací. Disertační práce je prezentována jako komentovaný soubor šesti vědeckých publikací, které již prošly (nebo procházejí) recenzním řízením a jsou publikovány ve významných impaktovaných časopisech. Již tento fakt potvrzuje vysokou vědeckou hodnotu předložené disertační práce.

Po úvodní teoretické části shrnující základní informace nutné k pochopení jednotlivých vztahů, následuje pět kapitol obsahujících komentář k publikovaným pracím. Zde si dovoluji tři malé poznámky: (i) pravděpodobně bych vedle sebe sdružil kapitoly týkající se popisu gradientových modelů a píkové komprese a kapitoly týkající se oligosacharidů, což znamená, že bych předřadil kapitolu 7 před kapitolu 5, (ii) je škoda, že v Úvodu práce na straně deset (poslední odstavec) doktorandka vynechává kratičký popis i prvních třech kapitol, zejména té třetí, (iii) věřím, že z hlediska přehlednosti a pochopení by nebylo na škodu kratičké vysvětlení pojmu píková komprese v kapitole týkající se cílů práce.

Práce je psaná čtivě a zejména třetí kapitola s teoretickou částí usnadňuje pochopení celého procesu a svědčí o velmi dobrém teoretickém přehledu Ing. Vaňkové. V práci se sice vyskytuje několik typografických chyb a překlepů, ty ale nijak významně nesnižují kvalitu předložené disertační práce.

K práci mám následující dotazy a připomínky:

Str. 35 – Mohla by doktorandka vysvětlit pojem „leave-two-out“ strategie?

Str. 40 – Optimalizovala doktorandka použitý rozšířený směsný model (rovnice 45) z hlediska statistické významnosti jednotlivých parametrů? Docházelo k této optimalizaci i u jiných modelů?

Str. 47 – Jaký je současný publikační status zasláního článku?

Str. 47 – Lze vystopovat efekt použitého modelu a typu látky na to, zda model „podhodnocuje“ (záporné odchylky), či naopak „nadhodnocuje“ (kladné odchylky) vypočtené retenční charakteristiky? Projevuje se zde retence jednotlivých analytů?


Str. 53 – Rozumím tomu dobře, že z poměru experimentálních šířek píků w_{grad} a w_{iso} byl pomocí rovnice 50 vypočten parametr píkové komprese, G , který byl následně porovnán s parametrem G vypočteným podle rovnice 52? Vzhledem k tomu, že doktorandka na straně 53 uvádí, že „Píkovou kompresi je možné

kvantifikovat porovnáním šířek píků získaných v gradientovém a isokratickém módu ...“ lze se domnívat, že samotný poměr experimentálních šířek píků může sloužit jako obecné kritérium dosažené píkové komprese. Je tomu tak?

Str. 60 – Porovnávala doktorandka hodnoty limitů detekce a kvantifikace vypočtené pomocí hodnoty šumu základní linie (rovnice 55 a 56) také s hodnotami využívajícím k výpočtu směrodatnou odchylku reziduí proložení kalibrační křivky? Jak by tyto hodnoty změnilly charakteristiky metody?

V práci mi trochu chybí praktická ukázka použití popsaných principů a postupů optimalizace gradientové eluce. S výjimkou obrázků 4 a 5 v Příloze III (kapitola 6) nedochází k většímu využití teoretických modelů při optimalizaci vlastních separací. Velmi zajímavé by například bylo využití diskutovaných modelů na vzorku derivátů oxyethylenovaných mastných alkoholů diskutovaných v kapitole 8.

Výše zmíněné připomínky a dotazy nesnižují vysokou vědeckou kvalitu disertační práce, slouží spíše k vyvolání diskuze. Disertační práce Ing. Nikoly Vaňkové splňuje veškeré požadavky, a proto ji **doporučuji** k obhajobě.



RNDr. Jiří Urban, Ph.D.

V Pardubicích 18. října 2016